BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Traumatic Brain Injury* (TBI)

2.1.1 Definisi TBI

TBI didefinisikan sebagai gangguan fungsi otak atau patologi yang disebabkan karena adanya tekanan dari kekuatan eksternal. Dampak yang terjadi karena TBI berupa trauma pada kepala yang akan mengganggu fungsi otak, baik yang bersifat sementara maupun permanen. Faktor resiko yang mampu meningkatkan keparahan dari TBI adalah umur, jenis kelamin, berat badan, ukuran tubuh, komorbid, pengguna alkohol, genetik, dan riwayat trauma otak sebelumnya (CDC *et al.*, 2013).

Konsekuensi dari TBI adalah gangguan fungsi otak yang akan berkembang pada kejadian disabilitas atau kematian. Proses penyembuhan fungsi neurologik setelah TBI bisa beberapa menit hingga beberapa tahun. Gejala yang ditunjukkan pasca TBI, diantaranya adalah sakit kepala, depresi, iritabilitas, gangguan tidur, konsentrasi menurun, dan pusing. Efek *aging* pada otak pasca TBI memang belum jelas, namun diketahui dari beberapa penelitian menunjukkan trauma dengan tingkat keparahan yang bervariasi terkait sindrom demensia, parkinson, dan alzheimer (CDC *et al.*, 2013).

Mekanisme utama dari TBI diklasifikasikan sebagai kerusakan otak fokal atau kerusakan otak difus. Kerusakan ini dapat mengakibatkan cedera aksonal atau pembengkakan otak (Nortje, 2004). Manifestasi klinis dari TBI, diantaranya adalah perubahan tingkat kesadaran, kebingungan, kejang, koma, dan atau defisit sensoris fokal atau motoris neurologis (Bruns dan Hauser, 2003).

2.1.2 Epidemiologi TBI

TBI adalah penyebab utama kematian dan disabilitas di usia dewasa muda pada mayoritas negara berkembang di dunia. Di UK 1,4 juta pasien per tahun mengalami trauma kepala. Meskipun mayoritas trauma pada tingkat *mild,* terdapat 10,9% diklasifikasikan ke dalam tingkat *moderate* atau *severe* dan banyak pasien secara signifikan dapat memunculkan dampak disabilitas. Insiden ini meningkat pada beberapa negara dengan pendapatan rendah, yang mana WHO juga memprediksikan bahwa TBI dan kecelakaan lalu lintas menjadi penyebab penyakit dan trauma terbesar nomor tiga di dunia pada tahun 2020 (Dinsmore, 2013). Setiap tahunnya, di Amerika Serikat terdapat sekitar 1,7 juta orang menderita TBI (CDC, 2013). Menurut *Brain Trauma Foundation* tahun 2007, TBI paling banyak disebabkan oleh kecelakaan kendaraan bermotor, cedera ketika berolahraga, ataupun akibat terjatuh. Di Indonesia sendiri, tepatnya di DKI Jakarta, tercatat 53,4% korban kecelakaan mengalami cedera parah terutama pada bagian kepala (Riyadina *et al.*, 2009). Data Kepolisian DIY menyebutkan tingginya kasus kecelakaan dan 88% kematian korban kecelakaan dikarenakan trauma kepala. Berdasarkan data tersebut TBI ditempatkan pada urutan kedua sebagai penyebab kematin terbanyak di DIY (DINKES DIY, 2012).

2.1.3 Patofisiologi

TBI diklasifikasikan menjadi beberapa jalur, yaitu TBI karena sebab fisik, keparahan fungsional TBI, atau perubahan fisik dengan TBI. Dampak TBI pada otak akan memberikan satu atau lebih efek langsung. Contohnya luka pada otak dan pendarahan. Hasil dampak ini sering memunculkan efek sekunder yang lebih jauh akan memperburuk tingkat keparahan trauma. Trauma bisa dibagi

menjadi tiga, yaitu trauma primer, trauma sekunder, serta trauma terlokalisasi dan menyebar (CDC *et al.*, 2013).

Trauma primer merupakan mekanisme trauma yang hasilnya secara langsung. Berdasarkan mekanisme dan keparahan trauma, gangguan pada jaringan otak yang terjadi berupa kerusakan akson, luka terbuka pada otak, pendarahan di sekeliling otak atau antara otak dengan tengkorak, dan memar pada otak. Tipe trauma ini dapat terjadi secara tunggal maupun kombinasi dan sering disertai dengan trauma pada banyak organ di bagian tubuh lain (CDC *et al.*, 2013).

Trauma sekunder muncul sebagai bentuk komplikasi dari trauma primer melalui berbagai mekanisme, termasuk inflamasi, disfungsi mediasi reseptor sel, radikal bebas, kerusakan oksidatif, dan kalsium atau kerusakan ion-mediasi sel. Mekanisme perubahan utamanya terjadi secara umum diikuti oleh banyak proses biologi dan terjadi beberapa menit hingga hari pasca TBI. Dampak dari munculnya trauma otak sekunder adalah meningkatnya konsentrasi cairan otak, sehingga timbul tekanan elevasi intrakranial. Proses sekunder ini, selanjutnya memodulasi proses ekspresi gen dan/atau regulasi protein yang berperan memimpin, memperbaiki, maupun menyebabkan kematian sel. Melihat besarnya resiko yang timbul dari proses ini, maka diperlukan terapi potensial yang memiliki target untuk membatasi tingkat keparahan trauma kepala pasca TBI (CDC *et al.*, 2013).

Selain trauma primer dan sekunder, TBI juga bisa terjadi melalui mekanisme trauma fokal dan menyebar. Beberapa pasien mungkin menunjukkan kombinasi dua mekanisme trauma ini. Trauma fokal dihasilkan saat pendarahan, memar atau penetrasi trauma yang terisolasi pada posisi tertentu di bagian otak.

Trauma otak menyebar (*diffuse*) menuju akson yang menghubungkan struktur otak juga seing terjadi, yang mana "*brain wires*" yang secara normal mendukung mekanisme pemulihan jaringan otak justru berubah aktivitasnya menjadi merusak dan dampaknya bisa dipercepat ataupun diperlambat. Akibatnya akan banyak terjadi defisit neurologik yang kemudian berfek terhadap fungsi otak secara keseluruhan (CDC *et al.*, 2013).

Tahap pertama cedera otak setelah TBI berlangsung ditandai dengan kerusakan jaringan langsung dan gangguan aliran darah ke otak. Iskemia menyebabkan akumulasi asam laktat karena glikolisis anaerob, peningkatan permeabilitas membran, dan pembentukan edema. Tahap kedua ditandai dengan depolarisasi membran sel bersama dengan rilis berlebihan dari neurotransmitter glutamat dan aspartat, aktivasi N-metil-D-aspartat, α-amino-3-hidroksi-5-metil-4-isoxazolpropionate, dan *voltage-dependent* Ca^{2+} dan Na^{+}-channel. Influx Ca^{2+} dan Na^{+} secara berturut-turut memicu terjadinya proses katabolisme intraseluler. Ca^{2+} mengaktifkan peroksidase lipid, protease, dan fosfolipase yang meningkatkan konsentrasi intraselular asam lemak bebas dan radikal bebas. Selain itu, aktivasi *caspases* (ICE-like protein), *translocases*, dan endonuklease menginisiasi perubahan struktural progresif membran biologis dan DNA nucleosomal mengakibatkan fragmentasi DNA dan penghambatan perbaikan DNA. Secara bersamaan, mekanisme tersebut menyebabkan degradasi membran struktur pembuluh darah dan sel serta kematian sel dan berujung pada nekrosis atau apopotosis pada sel (Werne dan Engelhard, 2013).

Terjadinya kerusakan pasca TBI akan mengaktivasi sistem imun pada sistem saraf pusat yang meliputi fagositosis mikroglia dan makrofag perifer pada area terjadinya trauma. Mikroglia akan mengeluarkan kemokin dan sitokin pro

infalmasi serta melepaskan produk neurotoksik berupa *nitric oxide* (NO), *malondialdehyde* (MDA), *reactive oxygen species* (ROS) dan *reactive nitrogen species* (RNS) (Hernandez-Ontiveros *et al.,* 2013). Keberadaan ROS dan MDA akan memperparah degradasi membran fosfolipid seluler, dan ketika dilepaskan ke darah akan menjadi biomarker efektif untuk terjadinya oksidasi lipid sehingga memunculkan resiko sepsis dan meningkatkan mortalitas pasca TBI (Lorente, 2015).

2.1.4 Diagnosis

Skrining yang mungkin dilakukan terhadap gejala yang timbul pasca TBI adalah dengan evaluasi secara cepat kemungkinan paparan terhadap kondisi trauma untuk mengidentifikasi jika terjadi gangguan kesadaran, atau jika terjadi perubahan neurologik lainnya. Tingkatan *mild* TBI cukup sulit untuk terdeteksi, karena trauma yang timbul dalam TBI tidak spesifik, trauma mayor bisa saja muncul di sekitar dada, abdomen, pelvis, atau di sekitar daerah ekstrimitas. Beberapa metode diagnosa yang dapat dilakukan adalah sebagai berikut (CDC *et al.*, 2013).

1. *Pre-Deployment Neurocognitive Baseline Testing* : skrining sebagai *self-report historical* untuk melihat tingkat kesadaran dan evaluasi kognitif.
2. *In Theater Screening* : skrining terhadap 4 parameter kognitif, yaitu orientasi, *immediate memory,* konsentrasi, dan *memory recall.*
3. *Post-Deployment* : kebalikan dari diagnosa yang pertama, dilakukan *interview* untuk melihat tingkat keparahan TBI.
4. *VA Clinical Screening* : digunakan untuk *follow-up* evaluasi dari hasil positif skrining, termasuk juga riwayat trauma sebelumnya dari pasien. Dilakukan dengan pemberian beberapa tes fisik.

5. *Civilian Clinical Screening* : diagnosa berdasarkan riwayat tanda dan gejala yang timbul, termasuk adanya tanda gangguan akut atau gangguan kesadaran atau masalah memori yang terjadi langsung pasca kejadian trauma. Jika positif terdapat gangguan ditandai dengan adanya kebiasaan abnormal, termasuk disorientasi, penurunan kemampuan ingatan jangka pendek, dan gangguan keseimbangan.

Untuk mengukur tingkat keparahan trauma pasca TBI dapat dilihat melalui parameter GCS (Glasgow Coma Scale) (CDC *et al.*, 2013).

Tabel 2.1 *Glasgow Coma Scale* (CDC *et al.,* 2013).

KEMAMPUAN	SKOR
Membuka mata (E)	
Spontan	4
To voice	3
To pain	2
None	1
Respon Gerak (M)	
Normal	6
Nyeri terlokalisasi	5
Withdraws to pain	4
Flexion-abnormal (an abnormal posture that can include rigidity, clenched fists, legs held straight out, and arms bent inward toward the body with the wrists and fingers bent and held on the chest)	3
Extension (an abnormal posture that can include rigidity, arms and legs held straight out, toes pointed downward, head and neck arched	2

backwards)	
None	1
Respon Verbal (V)	
Percakapan normal	5
Percakapan disorientasi	4
Berkata, tapi tidak nyambung	3
Tidak berkata, hanya bersuara	2
Tidak bersuara	1
Skor membuka mata (E) + Skor gerak (M) + Skor Verbal (V) = 3 sampai 15	

Indikator lain yang dapat digunakan adalah *Abbreviated Injury Scale* (AIS). Pengukuran AIS dilakukan berdasarkan anatomis, konsensus asal, sistem penghitungan derajat keparahan global yang mengklasifikasikan masing-masing cedera sesuai regio tubuh seperti kepala, leher, pelvis dan sebagainya (AAAM, 2015). Penentuan tingkat keparahan TBI yang akurat tidak dapat ditentukan dengan hanya menggunakan satu kriteria, dibutuhkan kriteria lain untuk saling menutupi keterbatasan suatu kriteria. Kriteria lain yang dapat digunakan diantaranya foto struktural, durasi hilangnya kesadaran dan amnesia pasca trauma TBI.

Tabel 2.2 Tingkat Keparahan TBI (CDC *et al.,* 2013).

	Mild	***Moderate***	***Severe***
Structure Imaging	Normal	Normal atau abnormal	Normal atau abnormal
Length of Time of Loss of Cons-	0-30 menit	>30 menit dan <24 jam	>24jam

ciousness			
Alternation of Consciousness / Mental State	*A moment up to* 24 jam	>24 jam *Severity based on other criteria*	
Post-Traumatic Amnesia	0-1 hari	>1 dan <7 hari	>7 hari
Glascow Coma Scale	13-15	9-12	3-8

2.1.5 Penatalaksanaan TBI

Kunci penting untuk mencegah terjadinya disabilitas dan kematian akibat TBI, perlu dilakukan penatalaksanaan yang efektif. Salah satu penatalaksanaan untuk TBI yang krusial adalah pada fase akut, hal ini bertujuan untuk (Soertidewi, 2012) :

1. Mencegah peningkatan tekanan intrakarnial
2. Mencegah dan terapi odema otak
3. Meminimalisir terjadinya kerusakan sekunder
4. Mengatasi gejala akut TBI
5. Mencegah dan mengobati komplikasi, seperti kejang dan infeksi

Adapun penatalaksanaan TBI sedang dan berat ditujukan untuk meningkatkan *outcome* pasien secara signifikan (WHO, 2006). Sementara tindakan penatalaksanaan yang umumnya dilakukan untuk TBI di Unit Gawat Darurat berupa (Soertidewi, 2012) :

1. Resusitasi dan tindakan ABC (*Airway, Breathing,* dan *Circulation*).
2. Pemeriksaan fisik yang terdiri dari tensi, nadi, frekuensi nafas, refleks pupil, defisit lokal, kesadaran, dan cedera ekstrakarnial.

3. Pemeriksaan radiologi, jika terjadi fraktur servikal dan terdapat indikasi foto ekstrimitas serta CT *scan* pada fraktur tulang tengkorak dan atau dugaan hematoma intrakarnial.
4. Pemeriksaan laboratorium yang terdiri dari Hb, leukosit, deferensiasi sel, gula darah sewaktu, ureum, kreatinin, analisis gas darah, elektrolit (Na, K, dan Cl), albumin, trombosit, PT, aPPT, dan fibrinogen.
5. Manajemen untuk terjadinya peningkatan tekanan intrakarnial, yaitu dengan posisi *supine*, kaki lebih tinggi dari kepala dan terapi diuretik baik menggunakan *loop diuretic* maupun manitol.
6. Pemberian nutrisi untuk mengompensasi terjadinya peningkatan kebutuhan nutrisi sebanyak 40% akibat terjadinya cedera kranioserebral.
7. Rehabilitasi / neurorestorasi, yaitu posisi baring diubah tiap 8 jam untuk mencegah dekubitus dan pneumonia ortostatik, pemeriksaan fungsi kognitifdan fungsi kortikal luhur lain dengan GCS, tes orientasi amnesia *Galveston* (GOAT) dan *Mini-Mental State Examination* (MMSE).
8. Penanganan dan pencegahan komplikasi, diantaranya :
   - Kejang, diberikan fenitoin 3 x 100 mg/hari.
   - Infeksi, diberikan profilaksis jika ada resiko tinggi terjadi infeksi seperti pada fraktur basis cranii atau fraktur terbuka serta kecurigaan infeksi meningeal.
   - Demam, diberikan antipiretik.
   - Gastrointestinal, diberikan antasida 3 x 1 tablet *per oral* atau *H2-bloker* 3 x 1 ampul IV selama 5 hari.
   - Gelisah, diberikan obat penenang.

9. Proteksi serebral yang ditujukan untuk pencegahan kerusakan otak sekunder. Manfaat neuroprotektor hingga saat ini masih terus diteliti, beberapa studi menyebutkan bahwa pemberian neuroprotektor dapat menekan kematian dan menambah perbaikan fungsi otak. Terapi yang biasanya dijadikan pilihan adalah antagonis kalsium (nimodipin) dan Citicoline.

Terapi farmakologi yang diberikan untuk pasien TBI dibagi menjadi 3 kelompok, yaitu sebagai berikut (CDC *et al.*, 2013).

1. Umum digunakan untuk trauma otak
   - Campuran peptida dengan aksi neurotropik : Cerebrolysin dan Actovegin
   - Agen *nootropic*
   - Agen anastesi, termasuk gas Xenon dan bahan-bahan anti-eksitotoksik
   - Hormon : *sex hormone* (progesteron) dan TRH (*thyrotropin-releasing hormone*) dan analog.
   - Antagonis hambat perkembangan sinyal di sistem saraf pusat : *Monoclonal antibodies to Nogo, Phosphodiesterase inhibitors (Rolipram),* dan *Dibuthyril cyclic AMP (db cAMP).*
   - *Inhibitors of Rho signaling (Cethrin)*
   - *Scar preventing substances (chondroitinase, cordaneurin, EphA4, antagonists).*
   - *Fusion technology (Polyethylene glycol).*
   - Terapi fisik *: Low-level LASER therapy, Oscillating Field Stimulator (OFS),* dan *Functional electrical stimulation.*

- *Immunetherapy with activated macrophages or lymfocytes : Pharmacological and physiatric stimulation of the spinal Central Pattern Generator (CPG).*

2. Memiliki efisiensi yang sama pada kondisi SCI (*Spinal Cord Injury*) dan TBI
   - Anti inflamasi dan imunomodulator : SAIDs (Metilprednisolon), Lazaroid (21-aminosteroid), NSAIDs (COX-2 inhibitor), IL-10 (Interleukin-10), dan Glatiramer asetat (Copaxon).
   - Agen anti eksitotoksik (*glutamate blockers*) : *NMDA blocker, AMPA blocker, dan KDI tripeptide.*
   - Pengkelat Besi : deferoksamin, 2,2'-bipridine, kuersetin).
   - Vitamin dan suplemen nutrisi lainnya : vitamin B, asam tioktik, selenium, zink, magnesium, dan sebagainya).
   - Antagonis kanal Ca^{2+} : nimodipine.
   - Litium.
   - *Monosialoganglioside GM1.*
   - IGF-1 (*Insulin-like Growth Factor*) : *Neurotrophins* (memiliki efek pleiotropik), GDNF (*Glial Derived Neurotrophic Factor*), BDNF (*Brain Derived Neurotrophic Factor*), NGF (*Nerve Growth Factor*), NT-3 (*Neurotrophin-3*), dan CNTF (*Cliary Neurotrophic Factor*).
   - *Apoptosis inhibitors, Protease inhibitors* (*caspase inhibitors, calpain inhibitors*), PARP (*poly (ADP-ribose*) *polymerase) inhibitors.*
   - DMSO (*dimethyl sulfoxide*).
   - Antioksidan *: Glutamate transporters (EAAC1 protein), Free radical scavangers (ascorbate,* vitamin E, *beta-carotene, alphatocopherol,*

penicillamine, superoxide dismutase, Q10, coenzime), *L-cysteine,* selenium, zink, dan magnesium.

- *Cell adhesion molecules* (L1-CAM).
- Eritropoietin.
- Melatonin.
- Inosine (Axosine™)
- AIT-082 (leteprinim potassium, Neotrofin)
- 4-aminopyridine (Fampridine)
- Riluzole
- *Local hypotermia*
- *Combinatory ('COMBO') strategies*

3. Umum digunakan untuk kondisi SCI
   - Statin (Simvastatin) aksi antagonis untuk menghambat perkembangan sinyal di sistem saraf pusat.
   - Agonis dopamin : Bromokriptin dan Lisurid
   - Agen kolinergik : Citicoline, Rivastigmin (Exelon)
   - *Hyperbaric oxygen therapy*

2.2 Fosfolipid

2.2.1 Definisi Fosfolipid

Lipid berperan secara struktural dan fungsional dalam otak dimana otak merupakan organ dengan konsentrasi lipid tertinggi setelah jaringan adiposa. Fosfolipid merupakan komponen dari struktur membran sel yang terlibat pada proses tranduksi sinyal intraneuron. Fosfolipid juga terlibat dalam transportasi membran dan neurotransmisi di otak (Tayebati, 2013).

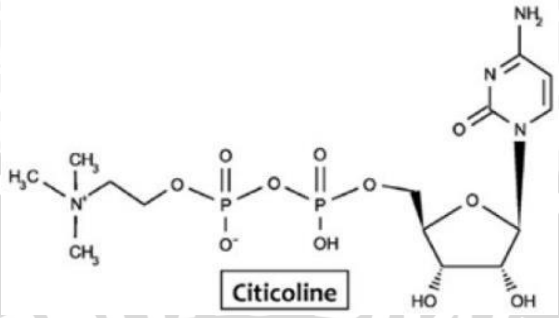
2.2.2 Mekanisme Distribusi Fosfolipid

Setelah terjadi TBI, tubuh akan menghasilkan banyak substansi dalam tingkatan sirkulasi, salah satunya *malondialdehyde* (MDA). MDA adalah bentuk *end-product* selama peroksidasi *lipid* yang menyebabkan degradasi membran fosfolipid seluler, yang dikeluarkan menuju lingkungan ekstraseluler dan akhirnya menuju ke darah, akan meningkatkan angka mortalitas akibat TBI. Selain MDA, juga dihasilkan *end-product* lain, yaitu ROS (*reactive oxygen species*) yang juga ikut serta meningkatkan level keparahan trauma otak sekunder dengan kontribusinya terhadap disfungsi seluler, hilangnya regulasi mikrovaskular, edema vasogenik, dan progresif dari iskemia postraumatik. Keberadaan ROS dan MDA akan memperparah degradasi membran fosfolipid seluler, dan ketika dilepaskan ke darah akan menjadi biomarker efektif untuk terjadinya oksidasi lipid sehingga memunculkan resiko sepsis (Lorente, 2015).

Fosfolipid terdapat sebanyak 45% dari total berat kering otak dan 60%-nya terdiri dari *myelin lipid*. Fosfolipid digunakan untuk menjaga struktur dan integritas fungsi dari membran neuronal, memfasilitasi pelepasan neurotransmiter dan *vesicular trafficking*, serta memediasi respon neuroinflamasi. Fosfolipid mengalami abnormalitas di otak dan cairan serebrospinal pada pasien TBI. Hal ini ditunjukkan dengan meningkatnya konsentrasi fosfatidilkolin dan fosfatidiletanolamin (Abdullah *et al.,* 2014). Sehingga perlu substansi terapi yang mampu mengendalikan abnormalitas fosfolipid dan meningkatkan distribusinya di otak dan cairan serebrospinal untuk menurunkan mortalitas atau peningkatan keparahan pasca TBI.

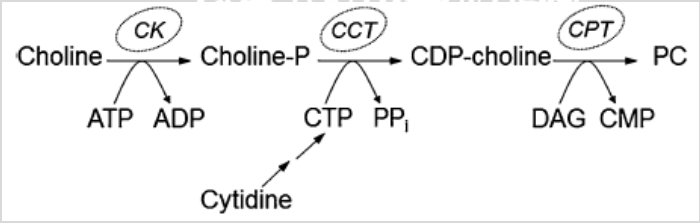
2.3 Citicoline

2.3.1 Definisi Citicoline



Gambar 2.1 Struktur Citicoline (Qureshi *et al.*, 2010).

Citicoline termasuk ke dalam golongan agen kolinergik yang umumnya digunakan untuk pengobatan *mild to moderate* demensia pada Alzheimer dan Parkinson dengan manfaat untuk memperbaiki fungsi kognitif. Penggunaannya berdasarkan hipotesis pada stimulasi sistem kolinergik pada area otak yang megatur *learning* dan memori. Citicoline atau c*ytidine diphosphate choline (CDP-choline)* adalah produk intermediet generasi fosfatidilkolin dari *choline.* Dijual di banyak negara sebagai psikostimulan atau suplemen nootropik (Onose *et al.,* 2011).



Gambar 2.2 Jalur Sintesis *CDP-choline* dari Fosfatidlkolin (Grieb, 2014).

CDP-choline (*cytidine-50-diphosphocholine*) atau dengan nama generik Citicoline merupakan salah satu terapi yang digunakan untuk pasien TBI di Indonesia. *CDP-choline* adalah senyawa dengan manfaat luas dalam kondisi yang berhubungan dengan gejala disfungsi neurologis (Qureshi *et al.*, 2010).

Dari hasil *clinical trials* Citicoline mampu memperbaiki parameter kognitif dan *behavioural* serta fungsi pada level neurologik terhadap pasien stroke iskemia (Overgaard, 2014). Studi lain juga menyebutkan bahwa Citicoline mampu meningkatkan proliferasi sel, vaskulogenesis dan level sinaptofisin pada stroke iskemia area peri-infark (Gutierrez-Fernandez *et al.,* 2012). Studi terbaru menyebutkan Citicoline juga mampu menstimulasi *remodelling* jaringan setelah stroke iskemia melalui stimulasi angiogenesis (Alshammari, 2014).

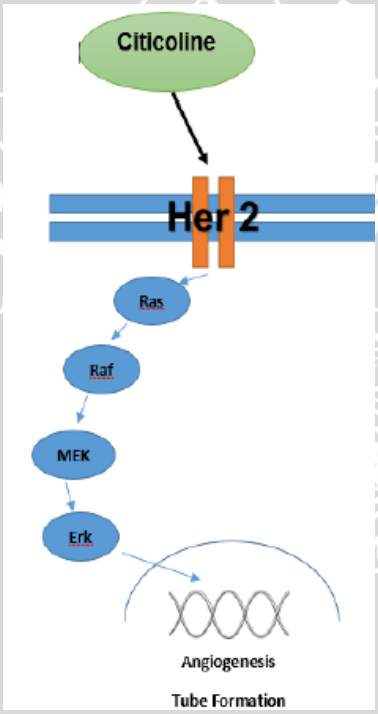
2.3.2 Mekanisme Aksi Citicoline

Citicoline memiliki beberapa mekanisme aksi sebagai neuroprotektor. Mekanisme aksi Citicoline antara lain adalah dengan mencegah aktivasi *phospholipase A2* dan *cardiolipin*, meningkatkan faktor aktivasi platelet, efektif pada peroksidasi lemak dan pemasok fosfatidilkolin sebagai bahan baku untuk biosintesis fosfolipid membran sel (Grieb, 2014; Menku *et al.*, 2014).

Mekanisme aksi Citicoline sebagai neuroprotektor adalah *counteracting excitotoxicity,* menjaga level adenosin 5'-trifosfat seluler, dan menstimulasi plastisitas neuronal. Telah banyak tipe perbaikan kognitif yang juga menjadi mekanisme aksinya, khususnya pada etiologi vaskular dan degeneratif. Sedikit uji klinis melaporkan perubahan signifikan dengan penggunaan senyawa terapi ini, namun uji coba lebih luas membutuhkan penggunaan efikasi Citicoline (Onose *et al.,* 2011).

Studi terbaru menyebutkan Citicoline mampu menstimulasi *remodelling* jaringan setelah stroke iskemia melalui stimulasi angiogenesis (Alshammari, 2014). Regulasi proses angiogenesis diatur oleh keseimbangan antara sinyal *microenvironmental pro-angiogenic* dan *anti-angiogenic.* Berdasarkan studi, proses angiogenesis sel endotelial diregulasi oleh aktivasi ERK (*extracellular*

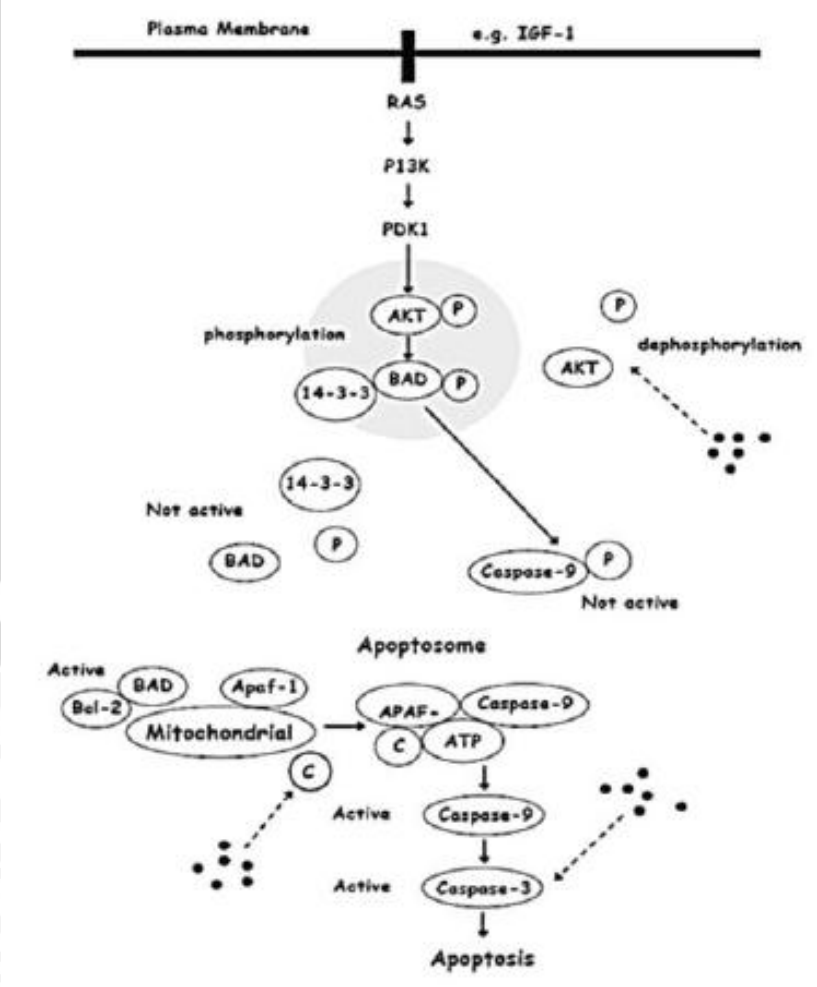
sinaling-regulated kinase). Berkaitan dengan hal ini, dalam sebuah hasil *western blotting* ditunjukkan bahwa Citicoline menginduksi ekspresi pERK 1 / 2, yaitu sebuah protein signaling *mitogenic* kunci yang dibentuk oleh interaksi *growth factors* dengan reseptornya (Slevin *et al.,* 2006). Aktivasi ERK2/ERK1 oleh fosforilasi mengatur beberapa target sitoplasma dan nuklear yang bertanggung jawab untuk sejumlah mekanisme biologis penting, seperti proliferasi, migrasi, diferensiasi dan kelangsungan hidup sel (Cagnol, 2010). Dengan aktivasi ERK 1 / 2 melalui reseptor HER-2 (ErbB2), Citicoline membentuk jalur *angiogenesis tube formation* (Alshammari, 2014).



Gambar 2.3 Jalur Citicoline yang Diinduksi oleh Ekspresi ERK 1/2 (Alshammari, 2014).

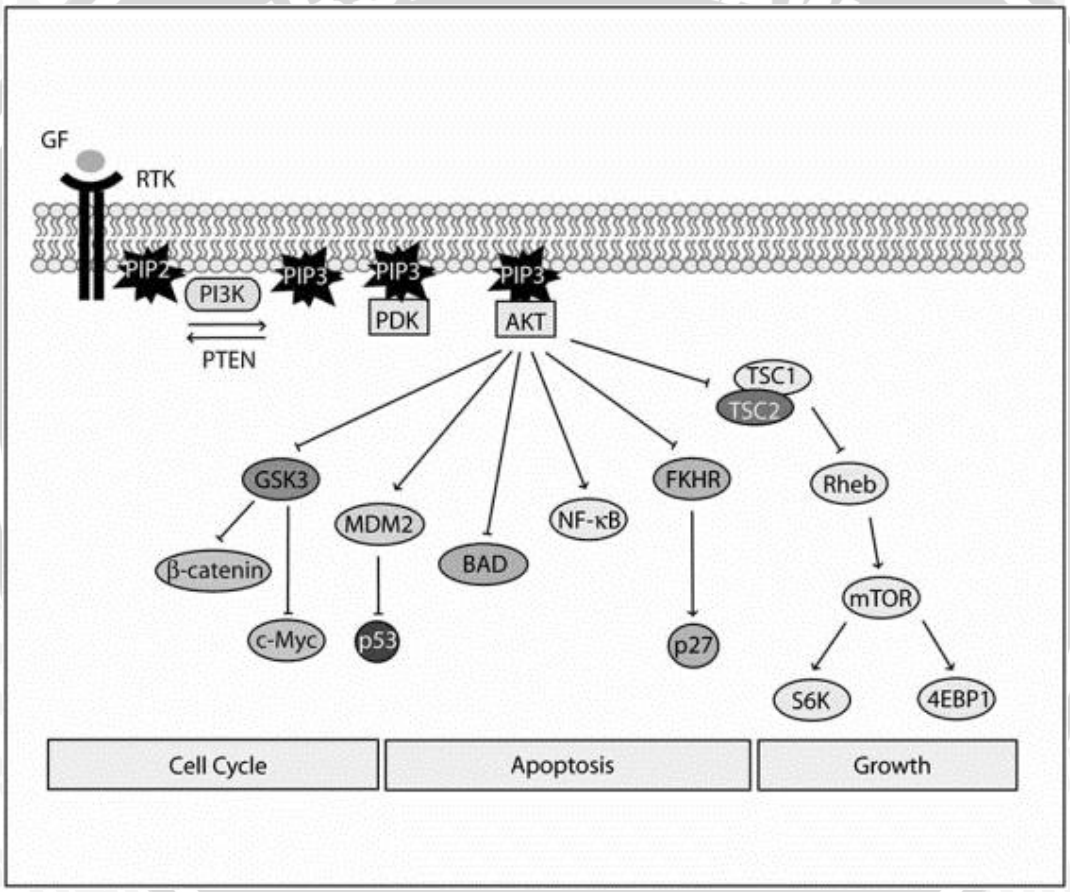
Dalam studi disebutkan, bahwa pemberian Citicoline mampu meningkatkan aktivitas *Insulin reseptor substrat-1* (IRS-1), yaitu anggota dari protein adaptor yang membentuk tautan sinyal dari aktivator ke beberapa efektor

untuk memodulasi pertumbuhan, metabolisme, kelangsungan hidup, dan diferensiasi normal. Meskipun sinyal protein IRS melalui banyak jalur, fungsi utamanya adalah mengatur jalur ERK dan jalur *phospholipid kinase phosphatidylinositol 3-kinase* (PI3-K). PI3-K dikenal untuk menghubungkan sinyal IGF-IR dengan aktivasi jalur Akt / *Protein kinase B* (Akt/PKB) terkait perlindungan sel dari proses apoptosis. Aktivasi PI3-K mengatur Akt, yaitu *serine-threonine kinase* yang memainkan peran penting dalam kelangsungan hidup sel. Perlindungan Akt terhadap apoptosis melibatkan penghambatan langsung (fosforilasi) dari sinyal pro-apoptosis seperti Bad dan FOXO3A (Pan, 2007).



Gambar 2.4 PI3K - Akt *Signalling Pathway* (Khoo, 2010).

Caspase merupakan protease yang terekspresi selama iskemia fokal dan global pada otak (Khoo, 2010). Pada kondisi TBI, caspase juga diekspresikan. Sehingga, melalui fosforilasi caspase, maka proses apoptosis sel neuron pasca TBI dapat dihambat dan efek neuroprotektif pun dihasilkan dalam proses ini. Dengan terhambatnya proses apoptosis sel, maka distribusi fosfolipid plasma membran sel neuron akan meningkat untuk mempertahankan kelangsungan hidup sel neuron.



Gambar 2.5 Signalling melalui PI3K dalam Mempengaruhi Regulasi Pertumbuhan Sel, Apoptosis dan Siklus Sel (Arcaro dan Guerreiro, 2007).

Jalur lain menyebutkan PI3K berperan memfosforilasi *phosphatidylinositol-biphosphates* (PIP2), menghasilkan *phosphatidylinositol-trifosfat* (PIP3). PIP3 bertindak sebagai situs *docking* untuk Akt dan PDK di

membran plasma. Setelah fosforilasi oleh PDK, Akt menjadi aktif dan memfosforilasi, sehingga terjadi aktivasi *mammalian target of rapamycin* (mTOR) yang berperan dalam regulasi pertumbuhan sel. Dengan aktivasi mTOR sebagai *growth factor* sel neuron, maka akan meningkatkan sintesis fosfolipid plasma membran untuk mengoptimalkan kelangsungan hidup sel neuron (Arcaro dan Guerreiro, 2007).

2.3.3 Dosis Citicoline

Dosis Citicoline untuk manusia adalah 2000 mg/hari (Zafonte *et al.,* 2012). Sedangkan dosis untuk uji pre klinis secara in vivo pada hewan coba, misalnya tikus adalah 250 mg/kgBB (Menku *et al.*, 2010).

2.4 Pegagan (*Centella asiatica*)

2.4.1 Klasifikasi Pegagan

Klasifikasi taksonomikal dari Pegagan (*Centella asiatica*) adalah sebagai berikut (BPOM RI, 2010; Deshpande *et al.*, 2014).

Kingdom : Plantae;

Divisi : Spermathophyta;

Subdivision : Angeospermae;

Class : Dicotyledonae;

Ordo : Umbilales;

Family : Umbelliferae (Apiaceaea);

Genus : Centella;

Species : *Centella asiatica* (L.) Urban.

2.4.2 Morfologi dan Habitat Pegagan

Gambar 2.6 Herba Pegagan (Deshpande *et al.,* 2014)

Pegagan tergolong ke dalam herba tahunan atau tanaman terna. Batang herba Pegagan berupa stolon menjalar di atas permukaan tanah dengan panjang 10-80 cm. Daunnya tunggal tersusun dalam roset yang terdiri atas 2-10 daun, kadang-kadang agak berambut. Tangkai daun panjang sampai 50 mm, helaian daun berbentuk ginjal, lebar, dan bundar dengan garis tengah 1 - 7 cm, tepi daun beringgit sampai bergerigi, terutama ke arah pangkal daun. Perbungaan berupa bunga majemuk tipe payung tunggal, terdiri atas 3 – 5 anak bunga, bersama-sama keluar dari ketiak daun, ukuran ibu tangkai 5 – 50 mm, lebih pendek dari tangkai daun. Bunga umumnya 3, yang ditengah duduk, yang disamping bertangkai pendek. Daun pelindung 2, panjang 304 mm, bentuk bulat telur. Mahkota bunga berwarna merah lembayung, panjang 1 -1,5 mm, lebar sampai 0,75 mm. Buah pipih, lebar lebih kurang 7 mm dan tinggi lebih kurang 3 mm, berlekuk 2, jelas berusuk, berwarna kuning kecoklatan, berdinding agak tebal (BPOM RI, 2010).

Identifikasi herba Pegagan secara mikroskopis menunjukkan adanya fragmen epidermis bawah dan atas dengan karakteristik stomata, sel palisade, kristal roset kalsium oksalat, kolenkim, sel parenkim, pembuluh spiral, dan serat (Peiris dan Kays, 1996).

2.4.3 Persebaran dan Masa Panen Pegagan

Herba Pegagan dapat ditemukan tumbuh dengan liar di seluruh wilayah Indonesia serta negara-negara dengan iklim tropis. Pegagan dapat tumbuh mulai dari dataran rendah hingga ketinggian 2500 mdpl, baik daerah terbuka atau ternaung. Pegagan juga tumbuh di tempat lembab dan subur, seperti *tegalan*, padang rumput, tepi parit, di antara batu-batu, dan di tepi jalan (BPOM RI, 2010). Pegagan memiliki masa panen setelah tanaman berumur 3 – 4 bulan dengan cara memangkas bagian daun dan batangnya dua bulan sekali. Hasil produksi total sekita 15 – 25 ton/ha segar atau setara dengan 1,5 – 2,5 ton/ha kering (Darwati dan Makmun, 2012).

Pegagan memiliki nama lokal tersendiri sesuai daerah tempat tumbuhnya, antara lain adalah *Indian Pennyworth* (Amerika), *Gotu kola* (Inggris), Tapak Kuda (Indonesia), *Pigago* (Minang), *Antanan Gede* atau *(Dulang Sontak* (Sunda), *Peugaga* (aceh), *Gagan-gagan* atau *Rendeng* (Jawa), *Semanggen* (Indramayu, Cirebon), *Pinduh* (Bali), *Bebele* (Lombok), *Pagaga* (Makassar), daun *Tungke* (Bugis), dan sebagainya (Singh *et al., 2010*; Rudiyanto, 2015).

2.4.4 Penggunaan Pegagan untuk Pengobatan

Pegagan banyak digunakan untuk pengobatan penyakit kulit secara tradisional. Selain itu, untuk penggunaan topikal pegagan juga digunakan untuk mengobati sakit perut, batuk, batuk berdarah, dan disentri, penyembuh luka, radang, pegal linu, asma, wasir, tuberkulosis, lepra, demam dan penambah selera makan (BPOM RI, 2010).

Menurut beberapa studi Pegagan berkhasiat sebagai hepatoprotektif, kardioprotektif, dan radioprotektif. Kandungan aktif dalam Pegagan ternyata mampu memberikan efek farmakologis terhadap sistem saraf pusat. Selain itu,

menurut pengobatan kuno Ayurveda dari India, Pegagan juga digunakan untuk merevitalisasi sel saraf dan sel otak (Gohil *et al.,* 2010, Kwon *et al.,* 2011, Xu *et al.,* 2013).

Beberapa penggunaan herba pegagan sebagai pengobatan menurut WHO adalah sebagai berikut (WHO, 1999).

1. Penggunaan yang didukung oleh data klinis

Digunakan dalam pengobatan luka, luka bakar, ulkus pada kulit yang ringan dan pencegahan keloid dan hipertrofi. Ekstrak telah digunakan untuk mengobati luka bakar derajat dua dan tiga. Selain itu, secara topikal dapat mempercepat penyembuhan, khususnya pada kasus pasca pembedahan dan luka sebtelah trauma. Ekstrak digunakan secara oral untuk terapi luka pada duodenal dan lambung (WHO, 1999).

2. Penggunaan yang sudah ada pada farmakope

Herba Pegagan telah dilaporkan untuk pengobatan ulkus pada kusta atau lepra dan gangguan vena. Studi menunjukkan bahwa ekstrak Pegagan menyebabkan pemulihan pada sirosis hati melalui mekanisme anti inflamasi. Kemudian penelitian selanjutnya masih membutuhkan peneliatian lanjutan mengenai aktivitas yang telah ditemukan tersebut (WHO, 1999).

3. Penggunaan oleh masyarakat namun belum ada data klinis yang mendukung

Herba Pegagan digunakan untuk terapi albino, anemia, bronkitis, selulitis, kolera, konstipasi, dermatitis, diare, pusing, disentri, dismenorrhea, disuria, epilepsi, *jaundice,* hematemesis, hepatitits, hipertensi, sakit gigi, neuralgia, reumatik, antipiretik, analgesik serta anti inflamasi (WHO, 1999).

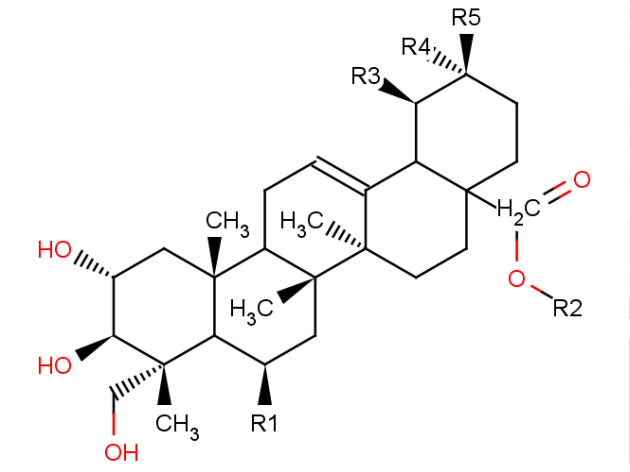
2.4.5 Kandungan Senyawa Fitokimia Pegagan

Kandungan senyawa fitokimia dalam herba Pegagan anatara lain adalah triterpenoid yang terdiri dari asiatikosida, madekasosida, asam asiatat, asam madekasat, asam indosentoat, bayogenin, asam 2α, 3β, 20, 23-tetrahidroksiurs-28-oat, asam euskapat, asam terminoat, asam 3β-6β-23-trihidroksiolean-12-en-28-oat, flavonoid, kaempferol, kuersetin, saponin, sentelasapogenol A, sentelasaponin A, B dan D, poliasetilen, kadiyenol, sentelin, asiatisin, dan sentelisin (BPOM RI, 2010). Berdasar studi, salah satu zat aktif pada Pegagan yang memiliki sifat sebagai neuroprotektor adalah madekasosida, yaitu dengan mengurangi daerah infark pada otak, mengurangi defisit neurologis, dan memperbaiki apoptosis neuron (Luo *et al.,* 2014).

Tabel 2.3 Kandungan Fitokonstituen dalam Pegagan (EMA*.,* 2010).

Main Groups	**Konstituen**
Minyak esensial (0.1 % dari tanaman)	Terpen asetat *Germacrene* *Caryophyllene* *p-Cymol* Pinen
Turunan Flavon	Glikosida kuersetin Kaempferol, Glikosida, dan *in free form* Astragalin
Seskuiterpene	*Caryophyllene* *Elemene* dan *bicycloelemene* *Trans-farnesence*

	Ermacrene D
Steroid Triterpenik	Stigmasterol Sitosterol
Asam Triterpenis	Asam asiatik *6-hydroxy asiatic acid* Asam madekasosida Asam madaasiatik Asam betullnik Asam thankum Asam isothankunik
Gula ester asam triterpen (sama dengan saponin atau pseudosaponin) (1-8 % berdasar wilayah tanam)	Asiatikosida (komponen utama) Asiatikosida A Asiatikosida B Asiatikosida A (Madekasosida) dan B Braminosida Bramosida Brahminosida Thankunisida Isothankunisida



Gambar 2.7 Struktur Kimia Asiatikosida dan Madekasosida (EMA, 2010).

Tabel 2.4 Keterangan Struktur Kimia (EMA, 2010).

Konstituen	R_1	R_2	R_3	R_4	R_5
Asiatic acid	-H	-H	-CH3	-CH3	-H
Madecassic acid	-OH	-H	-CH3	-CH3	-H
Asiaticoside	-H	1)-β-d-GLC-(6-1)-β-D-glc-(4-1)-α-L-rha	-CH3	-CH3	-H
Asiaticoside A[1]	-OH	1)-β-d-GLC-(6-1)-β-D-glc-(4-1)-α-L-rha	-CH3	-CH3	-H
Terminolic acid	-OH	-H	-CH3	-CH3	-CH3
Asiaticoside B	-OH	1)-β-d-GLC-(6-1)-β-D-glc-(4-1)-α-L-rha	-H	-CH3	-CH3

2.4.6 Posologi Pegagan

Secara oral, penggunaan ekstrak Pegagan adalah sebesar 0,33 – 0,66 gram/hari (WHO, 1999). Dosis ekstrak untuk sediaan infusa adalah 1-30 gram per hari, 3-15 ml per hari 1 : 3 masing-masing 25% *tincture*, dan 25 ml per hari untuk jus segar (Pole, 2006).

2.4.7 Standarisasi Herba Pegagan

Standarisasi herba Pegagan memiliki kriteria tertentu, yaitu sebagai berikut (WHO, 1999).

1. Tidak boleh mengandung Salmonella, spp. pada herba Pegagan. Adapun batas maksimum yang diterima untuk ekstraksi dengan metode dekokta adalah tidak diperbolehkan mengandung bakteri aerob ≥ 107 CFU/gram, jamur ≥ 103 CFU/gram, dan Escherrichia coli < 105 CFU/gram. Sedangkan untuk preparasi ekstrak dengan pemakaian oral adalah tidak diperbolehkan mengandung bakteri aerob ≥ 105 CFU/gram, jamur ≥ 104 CFU/gram, dan enterobakteri khususnya gram negatif ≥ 130 CFU/gram, serta tidak boleh mengandung *Escherricia coli*.
2. Kandungan total abu tidak boleh > 19%, maksimum residu dari aldrin dan dieldrin tidak boleh > 0,05 mg/kg, bahan organik asing tidak boleh > 2%, serta kadar logam kadmium maksimum 0,3 mg/kg.

2.4.8 Identifikasi Senyawa

Identifikasi senyawa kimia tanaman atau skrining fitokimia dilakukan untuk memberikan gambaran tentang golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak (Kristanti dkk., 2008).

2.4.8.1 Uji Kualitatif

Uji kualitatif yang sering digunakan dalam menentukan kandungan senyawa dala suatu tanaman dilakukan uji kualitatif dengan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) (Gandjar, 2007).

Salah satu bentuk kromatografi planar, selain kromatografi kertas dan kromatografi elektroforesis adalah KLT. Pada KLT, fase diamnya berupa lapisan

yang seragam (*uniform*) pada permukaan bidang datar yang didukung oleh lempeng kaca, pelat aluminium, atau plastik. Meskipun demikian, kromatografi planar ini merupakan bentuk terbuka dari kromatogafri kolom. Prinsip kerjanya dalah fase gerak sebagai larutan pengembang akan bergerak sepanjang fase diam karena pengaruh kapiler pada pengembangan secara menaik (*ascending*) atau karena pengaruh gravitasi pada pengembangan secara menurun (*descending*). KLT sering dipilih dari sekian banyak macam kromatigrafi dikarenakan peralatan yang digunakan sederhana dan dapat dikatakan hampir semua laboratorium dapat melaksanakan setiap saat secara efektif dan efisien. KLT dapat digunakan untuk memisahkan senyawa-senyawa yang sifatnya hidrofobik, seperti lipida-lipida dan hidrokarbon yang sukar dikerjakan dengan kromatografi kertas. Pelarut yang dipilih untuk pengembang disesuaikan dengan sifat kelarutan senyawa yang dianalisis. Bahan lapisan tipis seperti silika gel adalah senyawa yang tidak bereaksi dengan pereaksi-pereaksi yang lebih reaktif seperti asam sulfat. Data yang diperoleh dari KLT adalah nilai Rf yang berguna untuk identifikasi senyawa. Nilai Rf dapat didefinisikan sebagai jarak yang ditempuh oleh senyawa dari titik asal dibagi dengan jarak yang ditempuh oleh pelarut dari titik asal. Oleh karena itu, bilangan Rf selalu lebih kecil dari 1,0 (Gandjar, 2007).

Terdapat tiga komponen penting dalam pelaksanaan KLT, yaitu fase diam, fase gerak, penotolan (aplikasi) sampel, pengembangan, dan deteksi bercak. Fase diam yang digunakan dalam KLT merupakan penjerap berukuran kecil dengan diameter partikel antara 10 – 30 µm. Penjerap yang paling sering digunakan adalah silica dan serbuk selulosa, sementara mekanisme absorpsi yang utama pada KLT adalah adsorpsi dan partisi. Fase gerak pada KLT dapat

dipilih sesuai literatur, tetapi lebih sering dengan metode mencoba-coba, hanya waktu yang diperlukan hanya sebentar. Karena mudahnya pengaturan daya elusi, maka campuran 2 pelarut organik digunakan dalam sistem KLT untuk menghasilkan pemisahan yang optimal. Dalam aplikasi sampel, untuk memperoleh reprodusibilitas, volume sampel yang ditotolkan paling sedikit 0,5 µl. jika volume yang ditotolkan lebih besar dari 2 – 10 µl, maka penotolan harus dilakukan secara bertahap dengan pengeringan antar totolan. Proses pengembangan sampel dilakukan dalam bejana kromatografi yang sebelumnya telah dijenuhkan dengan uap fase gerak. Tepi bagian bawah lempeng tipis yang telah ditotol sampel dicelupkan ke dalam fase gerak kurang lebih 0,5 – 1 cm. Tinggi fase gerak dalam bejana harus di bawah lempeng yang telah berisi totolan sampel. Sebagai penanda bahwa bejana telah jenuh adalah fase gerak telah mencapai ujung dari kertas saring yang dilapiskan pada bejana. Untuk deteksi bercak dapat dilakukan secara fisika dan kimia. Secara fisika deteksi bercak dilakukan dengan pengamatan pada pencahayaan radioaktif dan fluoresensi sinar ultraviolet. Sedangkan, secara kimia dilakukan dengan mereaksikan dengan pereaksi tertentu melalui proses penyemprotan, sehingga bercak menjadi tampak jelas (Gandjar, 2007).

Untuk uji KLT senyawa asiatikosida menggunakan fase gerak dengan perbandingan kloroform : asam asetat glasial : metanol : air (60 : 32 : 12 : 6). Adapun pereaksi yang sebagai penampak noda adalah reagen anisaldehid asam sulfat dan dengan pemanasan pada *hot plate* selama 7 – 10 menit. Untuk pendeteksian bercak dilakukan pengamatan pada sinar UV dengan panjang gelombang 365 nm dan akan terbentuk warna ungu. Nilai Rf asiatikosida ekstrak Pegagan berkisar 0,2 – 0,35 (Gandjar, 2007).

2.4.8.1 Uji Kuantitatif

Uji kuantitatif senyawa titerpen (asiatikosida) dari ekstrak Pegagan dapat dilakukan dengan metode *Liquid Chromatography – Mass Spectra/Mass Spectra* (LC-MS/MS) yang dapat memisahkan dan mendeteksi senyawa tersebut dari senyawa yang lainnya berdasarkan berat molekul. Asiatikosida dapat terdeteksi pada berat molekul m/z induk = 957.000 dan berat molekul ion m/z = 468.300 – 470.800. kadar asiatikosida diuji dengan metode LC-MS/MS dengan kondisi operasi *autosampler* (merk = *thermo scientific, type = accela,* suhu = 10^{o}C, volume injeksi 2 µl). UPHLC dengan gardien (merk = *thermo scientific, type = accela,* fase gerak = air + 0.1 asam format, asetonitril + asam format, kolom = *hypersil gold* (50 x 2.1 x 1.9 µM)), MS/MS (merk = TSQ *quantum access max (triple quadrupole))* (Tiwari *et al.*, 2010).

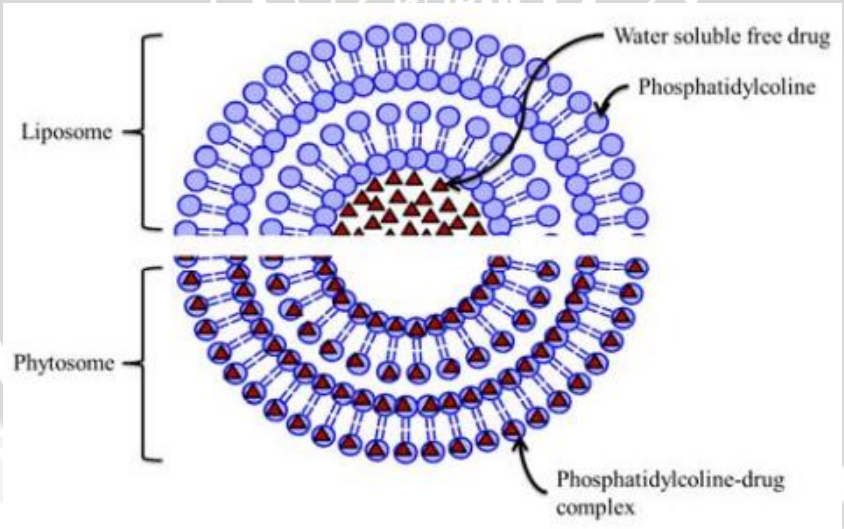
LC-MS/MS merupakan satu-satunya teknik *High Performance Liquid Cromatography* dengan detektor *Mass Spectrometry.* Kelebihan teknologi ini adalah menghasilkan analisa yang khas dan spesifik. Teknologi ini, memiliki aplikasi yang luas dan praktis, penerapannya tidak terbatas untuk molekul volatil (berat molekul di bawah 500 Da), juga mampu mengukur analit yang sangat polar. Untuk penyiapan sampel, cukup sederhana, karna tanpa menggunakan teknik derivatisasi. Dari segi fleksibilitas, pengujian yang berbeda dapat dikembangkan dengan tingkat fleksibilitas yang tinggi dan waktu yang singkat. Selain itu, teknologi ini juga kaya informasi, dimana sejumlah data kuantitatif maupun kualitatif dapat diperoleh. Hal ini disebabkan oleh seleksi ion yang sangat cepat dengan banyak parameter (Tiwari *et al.*, 2010).

2.5 *Phytosome*

2.5.1 Definisi *Phytosome*

Phytosome merupakan pengembangan teknologi farmasetika yang menggabungkan ekstrak tanaman atau fitokonstiuten larut air ke dalam fosfolipid untuk menghasilkan molekul yang larut dalam lipid (Kareparamban *et al.*, 2012). *Phytosome* memiliki struktur yang menyerupai membran lipid, yaitu kemampuan polar dari bagian lipofilik berinteraksi melalui ikatan hidrogen dengan kepala polar fosfolipid sehingga *phytosome* memiliki bioavailabilitas lebih baik dibanding teknologi lain, seperti liposom (Awasthi *et al*., 2011).

Phytosome diformulasikan dengan perbandingan antara fosfatidilkolon dan komponen tanaman sebanyak 1 : 1 atau 1 : 2 tergantung dari substansi yang akan dibuat kompleks melalui proses pembentukan ikatan kimia (Kareparamban *et al*., 2012).



Gambar 2.8 Perbedaan Liposom dengan *Phytosome* (Awasthi *et al*., 2011)

Phytosome merupakan suatu teknologi yang dikembangkan dari pembuatan obat dan *nutraceutical* untuk menggabungkan ekstrak dari tanaman yang larut di dalam fitokonstituen ke dalam fosfolipid untuk membentuk kompleks

molekul lipid (Jain *et al*., 2010). *Phytosome* meningkatkan absorbsi senyawa aktif dimana ikatan kimia antara fosfatidilkolin dan fitokonstituen menunjukkan stabilitas yang baik (Sharma dan Roy, 2010).

2.5.2 Karakterisasi *Phytosome*

Terdapat beberapa faktor yang memiliki peranan penting dalam menentukan sifat fisik dan biologi dalam *phytosome,* yaitu ukuran fisik, permeabilitas membran, prsesentase zat terjerap, komposisi kimia dari bahan (Kareparamban *et al*., 2012).

a) Suhu Transisi : ditentukan dengan metode pemindaian kalorimetri.
b) Efisiensi penjeratan : ditentukan dengan teknik ultrasentrifugasi.
c) Ukuran vesikel dan potensial zeta : ditentukan dengan hamburan cahaya dinamis yang menggunakan sistem inspeksi terkomputerisasi dan spektroskopi korelasi foton.
d) Pengukuran aktivitas tegangan permukaan : diukur dengan metode cincin *DuNouy* tensiometer
e) Evaluasi spektroskopi : digunakan untuk mengkonfirmasi pembentukan kompleks antara fitokonstituen dan bagian fosfolipid serta untuk mempelajari interaksi yang sesuai antara keduanya.

2.5.3 Keuntungan *Phytosome*

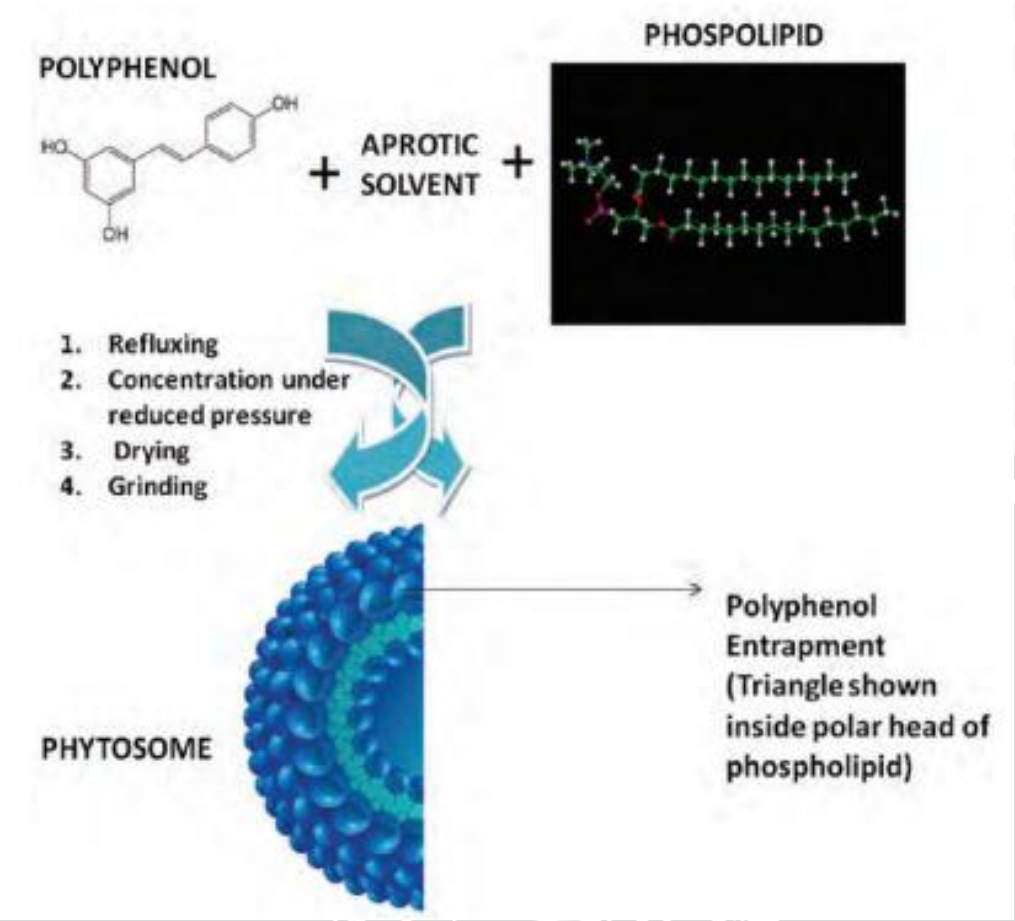
Keuntungan dari teknologi *phytosome* adalah sebagai berikut (Kareparamban *et al.*, 2012).

a) Menyelimuti fitokonstituen, sehingga mampu melindungi dari sekresi enzim pencernaan dan bakteri usus.

b) Memiliki sifat penjeratan maksimal dalam membran, sehingga membutuhkan dosis fitokonstituen dalam jumlah kecil.
c) Obat mengalami konjugasi dalam pembentukan vesikel, sehingga efisiensi penjeratan tinggi.
d) Terjadi pembentukan ikatan kimia antara fosfatifilkolin dengan fitokonstituen, sehingga memiliki profil stabilitas lebih baik.
e) Fosfatifilkolin selain bertindak sebagai pembawa, juga memiliki sifat sebagai hepatoprotektor.

2.5.4 Preparasi *Phytosome*

Fosfatidilkolin adalah senyawa bifungsional yang dibagi menjadi bagian fosfatidil (bersifat lipofilik) dan bagian kolin (bersifat hidrofilik). Kedua sifat ini menjadikan fosfatidilkolin sebagai *emulsifier.* Lipid di bagian fosfatidil yang terdiri dari bagian tubuh dan ekor akan mengelilingi bagian kolin, sedangkan bagian kolin akan mengikat senyawa tertentu. Oleh karena itu, fitokonstituen menghasilkan kompleks molekul kompatibel lipid dengan fosfolipid (Singh *et al.*, 2011).



Gambar 2.9 Preparasi *Phytosome* (Singh *et al.,* 2011).

Dalam pembentukan kompleks fito-fosfolipid rasio antara kedua komponen tersebut adalah dalam kisaran 0,5 - 2 mol rasio namun lebih disarankan rasio dari fosfolipid dengan fitokonstituen adalah 1 : 1 (Jain *et al.*, 2010).

2.5.5 Komposisi *Phytosome*

2.5.5.1 Fosfolipid

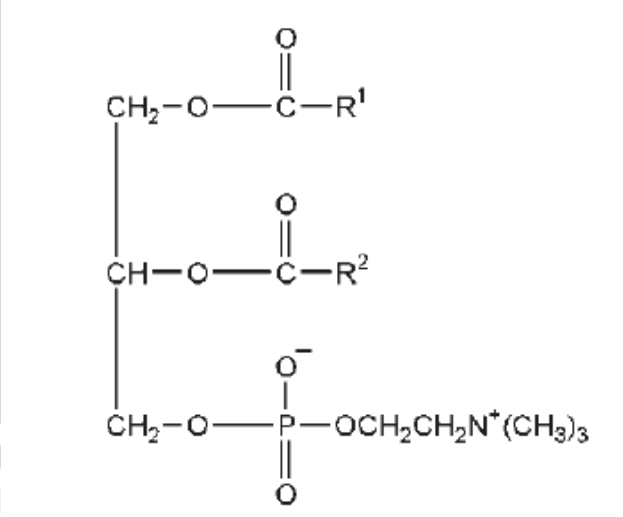
Fosfolipid yang paling umum digunakan adalah fosfatidilkolin. Fosfatidilkolin bersifat tidak larut dalam air. Dalam media air, fosfatidilkolin akan membentuk planar bilayer untuk meminimalkan reaksi tidak menguntungkan antara fasa air (dalam jumlah besar) dan hidrokarbon (rantai lemak yang

panjang). Komponen formula liposom yang paling umum digunakan adalah gliserol dengan adanya kandungan fosfolipid di dalamnya. Terdapat lebih dari 50% berat lipid berada di dalam membran biologis. Adapun jenis-jenis fosfolipid adalah sebagai berikut (Anwekar *et al.*, 2013).

a) *Phosphatidyl Choline* (Lesitin) – PC
b) *Phosphatidyl Etanolamine* (Cephalin) – PE
c) *Phosphatidyl Serine* - PS
d) *Phosphatidyl Inositol* - PI
e) *Phosphatidyl Glycerol* - PG Preformulasi

Dalam bidang industri farmasi dan makanan, jenis fosfatidilkolin yang sering digunakan adalah *soya lecitin.* Selain karena sifatnya mampu menjadi *emulsifier,* jenis ini juga dapat digunakan untuk penargetan obat, karena kemampuannya membentuk vesikel pipih (Rousset *et al.,* 2010).

Berikut ini adalah karakteristik lesitin (Rowe *et al.,* 2006).



Gambar 2.10 Struktur Lesitin (Rowe *et al.,* 2006).

Sinonim : E 322; LSC 5050; LSC 5040; *mixed soybean phosphatides*; *ovolechitin* Phosal 53 MCT; Phospholipon 100 H.

Komposisi : 21 % fosfatidilkolin, 22% fosfatidiletanolamin, dan 19% fosfatidilinositol.

Kategori Fungsional : emulgator, bahan pelarut, bahan penstabil emulsi.

Pemerian : secara fisik lesitin berbentuk sangat bermacam-macam, berbentuk kental, semi likuid hingga serbuk, tergantung pada asam lemak bebas yang dikandungnya. Lesitin berwarna kuning terang hingga coklat dan tidak berbau, tergantung pada tingkat kemurniannya dan pemutihannya. Ketika terpapar dengan udara, oksidasi akan terjadi lebih cepat sehingga berwarna coklat gelap.

Sifat kimia dan fisika : lesitin memiliki densitas 0,97 gram/cm^3 untuk likuid, dengan nilai isoelektrik ebesar 3,5.

Kelarutan : lesitin larut dalam hidrokarbon alifatik dan aromatik, hidrokarbon terhalogenasi, minyak mineral, dan asam lemak. Praktis tidak larut dalam minyak sayur dan hewan yang dingin, air, serta pelarut polar. Ketika dicampur dengan air akan membentuk emulsi.

Stabilitas : lesitin terdekomposisi pada pH yang ekstrim. Selain itu, juga bersifat higroskopis dan dapat terdegradai oleh mikroba. Ketika dipanaskan, lesitin akan teroksidasi dan terdekomposisi menjadi lebih gelap. Suhu yang dapat menyebabkan degradasi adalah 160-180^oC selama kurang lebih 24 jam. Semua lesitin harus disimpan dalam wadah tertutup rapat terhindar dari cahaya dan oksidasi.